

トラフグ稚魚のフグ毒の知覚・摂取と脳内作用に関する研究

長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科 沖田 光玄

フグは強力な神経麻痺毒であるテトロドトキシン（フグ毒）を保有する。有毒餌生物を遮断した環境で飼育されたトラフグは無毒となるが、無毒のフグに対してフグ毒を提示すると強く誘引され、さらにフグ毒を投与すると毒化する。以上より、フグはフグ毒を保有する餌生物を捕食することで毒化する可能性が高い。しかし、フグがフグ毒をどのようにして知覚し、摂取したフグ毒が体内でどのように作用するかは完全に解明されていない。本研究では、フグに対するフグ毒の生態学的意義の解明の一環として、トラフグ稚魚のフグ毒の知覚・摂取と脳内作用に着目した。

まず、トラフグ稚魚に無手術、擬手術または嗅覚遮断手術を施して Y 字迷路水槽内でフグ毒に対する行動を比較した。無手術個体と擬手術個体はフグ毒に誘引されたが、嗅覚を遮断すると誘引反応が消失した。次に、天然稚魚を灌流固定し、抗フグ毒モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学によりフグ毒の組織内分布を調べた。続いて、天然稚魚と同サイズの無毒人工種苗にフグ毒添加飼料を給餌して毒化させ、フグ毒の組織内分布を天然稚魚のそれと比較した。その結果、天然稚魚の肝組織、表皮基底細胞、脳（特に視蓋、小脳、延髄）、視神経および嗅上皮からフグ毒を検出した。また、フグ毒投与人工種苗も同様のフグ毒蓄積を示した。以上より、トラフグ稚魚はフグ毒を嗅覚で感知して摂取し、取り込んだフグ毒が脳および感覚器（眼、嗅覚器）に移行されることが分かった（第 2 章）。

トラフグ稚魚のフグ毒の知覚・摂取と脳内作用を明らかにするため、フグ毒を感知、摂取または蓄積させた無毒人工種苗について、それぞれの嗅上皮と脳での遺伝子発現を網羅的に調べた。嗅上皮では嗅覚受容体、脳では摂食を調節する神経ペプチドおよび行動に関与する脳内モノアミンを目的遺伝子とした。

まず、新鮮海水に浸漬した個体とフグ毒添加海水に浸漬して嗅覚を刺激した個体について、次世代シーケンサーを用いて嗅上皮と脳からそれぞれ全 mRNA をシーケンスした後、目的遺伝子の mRNA のコピー数を計数して比較し、フグ毒の感知により発現の変動する遺

伝子を調べた。嗅上皮では、フグ毒の刺激により OR 嗅覚受容体 1 種が海水浸漬個体に比べて発現が 1/4 に低下した。脳では、フグ毒の刺激により摂食亢進性神経ペプチドの受容体 1 種の発現が海水浸漬個体に比べて 1.5 倍増加し、摂食抑制性神経ペプチド 2 種の発現が 1/5-1/2 に低下したことから、トラフグ稚魚はフグ毒を感知すると食欲が促進されると考えた。

次に、無毒人工種苗を 1 尾収容した水槽にフグ毒含有担体を投入してフグ毒に対する誘引試験を行い、1 時間の観察中にフグ毒を摂取し続けた個体と反応しなかった個体とに分けた。トラフグゲノムデータベース上の推定転写産物をもとに作製したマイクロアレイチップを用いて、嗅上皮と脳に存在する全 RNA の遺伝子発現解析を行い、フグ毒誘引個体に特徴的な発現を示す遺伝子を調べた。嗅上皮では、フグ毒誘引個体は非誘引個体に比べて嗅覚受容体 OR (2 種)、V1R (1 種) および V2R (2 種) の発現が高く (1.6-3.3 倍)、OR の一部 (3 種) の発現が低かった (1/2.7-2/3 倍)。これらの嗅覚受容体の発現パターンの違いが、フグ毒に対する誘引行動の発現に関与していると考えられる。フグ毒誘引個体の脳内では、摂食亢進に加え摂食抑制に関わる神経ペプチドの発現も高かった。これらのことから、トラフグ稚魚は摂食抑制系が機能し始めてもフグ毒を取り込み続けると考えた。

最後に、生理食塩水またはフグ毒を投与した個体について、次世代シーケンサーを用いて嗅上皮と脳からそれぞれ全 mRNA をシーケンスした後、目的遺伝子の mRNA のコピー数を計数して比較し、フグ毒の蓄積により発現の変動する遺伝子を調べた。フグ毒の投与により嗅上皮では嗅覚受容体の OR (6 種) と V2R (1 種) が発現変動し、嗅覚系が再編成されることが示された。脳では、フグ毒の投与により脳内モノアミンの放出に関わるシナプス小胞モノアミントランスポーターの発現が 1.5-2.0 倍増加し、ドーパミンの放出を促進するカンナビノイド受容体の発現が 1.5 倍増加したことから、報酬系に関与するドーパミンが分泌された可能性が高い (第 3 章)。

以上より、トラフグ稚魚では、嗅覚器にフグ毒が直接作用して嗅覚受容体の発現パターンが再編成されることで、フグ毒を高感度で感知すると考えた。トラフグ稚魚はフグ毒を感知すると食欲が促進されフグ毒の摂取を開始し、摂食抑制系が機能してもフグ毒を要求し続け、脳内に直接作用して報酬系が活発化することから、フグは進化の過程でフグ毒を報酬として認識することで、フグ毒を積極的に体内に取り込むようになったと考えた。